

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **234085**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **418557**

(51) Int.Cl.
C07H 15/203 (2006.01)
C12P 19/44 (2006.01)
C12R 1/65 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **05.09.2016**

(54) **4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-**
-dihydrochalkon i sposób otrzymywania 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-
-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkonu

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

12.03.2018 BUP 06/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

31.01.2020 WUP 01/20

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**JAROSŁAW POPŁOŃSKI,
Szkłarska Poręba, PL
SANDRA SORDON, Komprachcice, PL
TOMASZ TRONINA, Międzybórz, PL
EWA HUSZCZA, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 234085 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkon, o wzorze 2 przedstawionym na rysunku oraz sposób otrzymywania 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkonu.

Związek ten jest biologicznie czynny i może mieć zastosowanie w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień o przedmiotowym związku ani o sposobach jego otrzymywania.

Glukozyłacja flawonoidów zwiększa ich hydrofilowość, co można wykorzystać podczas produkcji rozpuszczalnych w wodzie nutraceutyków. Związek według wynalazku jest potencjalnym materiałem wyjściowym dla dalszych strukturalnych modyfikacji, które mogą okazać się użyteczne w produkcji aktywniejszych związków.

Istotą wynalazku jest 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkon.

Istotą wynalazku jest także sposób otrzymywania tego związku, polegający na tym, że substrat, którym jest 4,2',4,-trihydroksy-3'-[3''-2-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkon, poddaje się transformacji mikrobiologicznej, w wyniku czego otrzymuje się 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkon. Grzyby strzępkowe z gatunku *Absidia coerulea* namnaża się w płynnym podłożu mikrobiologicznym, przy ciągłym mieszaniu reagentów, w temperaturze 12–40°C. Następnie do narośniętej hodowli dodaje się substrat i dalej prowadzi proces, aż do całkowitego zużycia substratu. Po zakończeniu transformacji roztwór transformacyjny ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, oddziela frakcję organiczną, osusza bezwodnym siarczanem magnezu, odparowuje rozpuszczalnik i tak otrzymany surowy produkt oczyszcza się za pomocą technik chromatograficznych.

Korzystnie jest, gdy grzybem jest *Absidia coerulea* AM93.

Korzystnie również jest, gdy reakcję prowadzi się w temperaturze 26°C.

Postępując zgodnie z wynalazkiem, w wyniku działania układu enzymatycznego zawartego w żywych komórkach kultury *Absidia coerulea* następuje reakcja glukozyłacji w substracie.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie, w łagodnych warunkach 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkonu, jako głównego produktu reakcji w kulturze *Absidia coerulea*. Wydajność reakcji osiąga poziom ponad 80%.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d 1. Do kolby o pojemności 300 cm³, w której znajduje się 100 cm³ sterylnej pożywki zawierającej 3 g glukozy i 1 g aminobaku na 1 dm³ wody destylowanej, wprowadza się grzyby strzępkowe *Absidia coerulea* AM93. Po 6 dniach wzrostu drobnoustrojów w temperaturze 26°C i przy ciągłym wstrząsaniu, dodaje się 15 mg 4,2',4,-trihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkonu, o wzorze 1, rozpuszczonego w 1,5 cm³ dimetylosulfotlenku. Transformację prowadzi się przy ciągłym wstrząsaniu przez 10 dób. Po tym czasie hodowlę zakwasza się 1-molowym kwasem chlorowodorowym do pH 4,5. Następnie, uzyskany roztwór transformacyjny ekstrahuje się trzykrotnie octanem etylu, osusza bezwodnym siarczanem magnezu i odparowuje rozpuszczalnik. Uzyskuje się 24,16 mg surowego ekstraktu, który oczyszcza się chromatograficznie, używając jako eluentu mieszaninę chloroform : metanol w stosunku objętościowym 1:1. Po oczyszczeniu otrzymuje się 18,30 mg 4'-O-β-D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy-α,β-dihydrochalkonu, o wzorze 2 z wydajnością 84%.

Uzyskany produkt charakteryzuje się następującymi danymi spektralnymi:

¹H NMR (600 MHz, aceton-d₆) δ: 0,92 (3H, d, J = 6,6 Hz, H-4''), 0,93 (3H, d, J = 5,4 Hz, H-5''), 1,35–1,42 (2H, m, H-2''), 1,57 (1H, m, H-3''), 2,58 (1H, m, H-1''a), 2,68 (1H, m, H-1''b), 2,86 (2H, m, H-β), 3,28 (2H, m, H-α), 3,39 (1H, m, H-4'''), 3,54 (2H, m, H-2'''), 3,60 (1H, m, H-5'''), 3,66 (1H, m, H-6''a), 3,92 (3H, s, C6'-OCH₃), 3,94 (1H, m, H-6''b), 5,09 (1H, d, J = 7,2 Hz, H-1'''), 6,47 (1H, s, H-5'), 6,75 (2H, m, J = 8,3 Hz, H-3, H-5), 7,08 (2H, m, J = 8,3 Hz, H-2, H-6), 14,03 (C2'-OH).

¹³C NMR (150 MHz, aceton-d₆) δ: 20,89 (C-1''), 22,94 (C-5''), 23,04 (C-4''), 28,90 (C-3''), 30,36 (C-β), 38,94 (C-2''), 47,21 (C-α), 56,15 (C6'-OCH₃), 62,77 (C-6'''), 71,54 (C-4'''), 74,60 (C-2'''), 78,32 (3'''), 78,38 (C-5'''), 91,09 (C-5'), 101,43 (C-1'''), 106,86 (C-1'), 112,30 (C-3'), 115,99 (C-3, C-5), 130,15 (C-2, C-6), 133,24 (C-1), 156,41 (C-4), 162,02 (C-6'), 162,58 (C-4'), 164,55 (C-2'), 206,50 (C=O).

Zastrzeżenia patentowe

1. 4'-O- β -D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy- α,β -dihydrochalkon, o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania 4'-O- β -D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy- α,β -dihydrochalkonu, **znamienny tym**, że na drodze reakcji mikrobiologicznej transformacji substratu, którym jest 4,2',4'-trihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy- α,β -dihydrochalkon o wzorze 1, otrzymuje się w 4'-O- β -D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy- α,β -dihydrochalkon o wzorze 2, w taki sposób, że grzyby z gatunku *Absidia coerulea*, namnaża się w płynnym podłożu mikrobiologicznym, charakterystycznym dla grzybów strzępkowych, przy ciągłym mieszaniu reagentów, w temperaturze 12–40°C, po czym po upływie od 3 do 7 dni, do narośniętej hodowli dodaje się substrat i dalej prowadzi proces, aż do całkowitego zużycia substratu, po czym po zakończeniu transformacji roztwór transformacyjny ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, oddziela frakcję organiczną, odwadnia, odparowuje rozpuszczalnik i tak otrzymany surowy produkt oczyszcza się za pomocą technik chromatograficznych, w wyniku czego otrzymuje się czysty produkt, którym jest 4'-O- β -D-glukopiranozylo-4,2'-dihydroksy-3'-[3''-metylobutylo]-6'-metoksy- α,β -dihydrochalkon.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że grzybem jest *Absidia coerulea* AM93.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że proces prowadzi się w temperaturze 26°C.

Rysunek

